MPO = MultiParameter Optimering

Jan Kehler, H. Lundbeck A/S

Drugability = "lægemiddelagtighed"

Hvad bestemmer, hvor godt et kemisk stof trænger ind i hjernen? Svaret på dette spørgsmål har pirret forskeres nysgerrighed i årtier. Det er i virkeligheden et spørgsmål om molekylers evne til at trænge ind over den beskyttende blod-hjerne-barriere (BBB). Og netop det afgøres af molekylernes fysisk-kemiske egenskaber. Det er idet hele taget molekylernes fysisk-kemiske egenskaber som afgør hvor godt de gennemtrænger alle typer bio-membraner f.eks. slimhinderne i mave-tarm-kanalen. Forskningsresultater fra de sidste 5 år har nu klargjort hvilke 6 fysisk-kemiske egenskaber der er afgørende for et molekyles evne til at trænge ind i hjernen. De 6 egenskaber er:

1. Lipophilicitet, cLogP = 10-talslogaritmen til fordelingskoefficienten mellem 1-octanol og vand
2. Lipophilicitet ved fysiologisk pH =7,4, $cLogD_{7,4}$
3. Polært overflade areal (målt i $Å^2$), PSA
4. Molekylvægten, Mw
5. Antal hydrogen bindingsdonorer, HBD = antal oxygen og nitrogen med et Hydrogen- bundet
6. Syrestyrken, pKs

Andre fysisk-kemiske egenskaber (som ikke vil blive nærmere omtalt her) spiller en mindre rolle, nemlig: antal hydrogen bindings acceptorer (HBA), molekylernes fleksibilitet målt ved antal roterbare bindinger, molekylernes solvent-tilgængelige overflade areal, molekylernes lipophile overflade areal, molekylernes form og facon, molekylernes volumen.

"Lipinski Rule-of-Five":
I slutningen af 1990'erne lavede computer-kemikeren Chris Lipinski en analyse af de fysisk-kemiske egenskaber af 2500 lægemiddelkandidater, der havde gennemgået klinisk testning (fase 2) i mennesker. [1] Lipinski opdagede det meget interessante mønster, at 90% af alle lægemiddelkandidaterne er forholdsvis små og lipophile molekyler, der opfylder stringente krav, som siden er blev kaldt "Lipinski Rule-of-Five":

- Højst 5 hydrogen bindings donorer
- Højst 10 hydrogen bond acceptors (nitrogen eller oxygen atomer)
- Molecular vægt under 500 g/mol
- En octanol-vand fordelings koefficient log P mindre end 5

Bemærk at alle tal er multiple af 5, heraf navnet "rule-of-five". Lipinski's regel blev hurtigt accepteret som en tommelfingerregel til at evaluere et stofs egnethed som lægemiddel (eng.: Drug), også kaldet "druglikeness" eller "drugability".

Lipinski opdagede også at der gælder særligt strenge regler for lægemidler der skal virke i hjernen:

- Højst 3 hydrogen bindings donorer
- Højst 6 hydrogen bond acceptors (nitrogen eller oxygen atomer)
- Molecular vægt under 400 g/mol
- En octanol-vand fordelings koefficient log P mindre end 4

Lipinski's regel baserer sig udelukkende på statistik, men I de seneste 10 år har forskere afdækket de bagvedliggende biologiske årsager til de strenge krav.

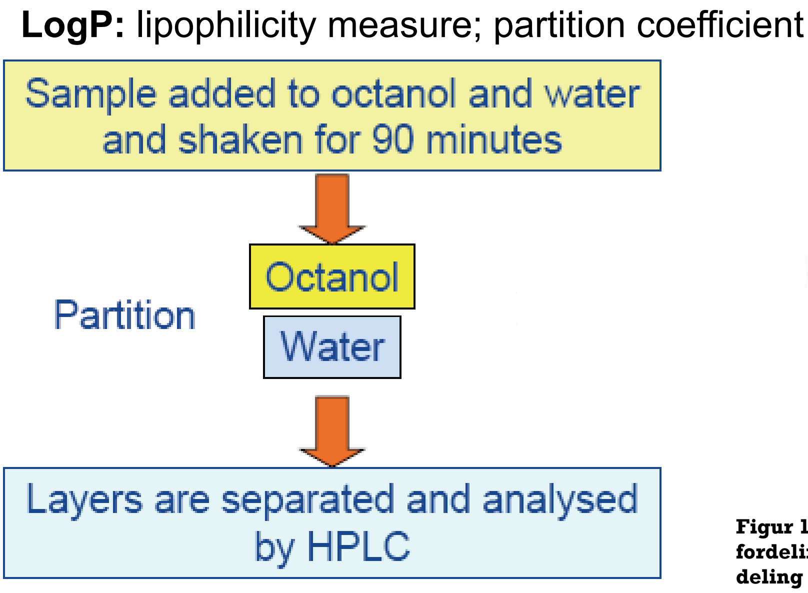
LogP: Et mål for lipofilicitet = hvor fedtelskende er et stof

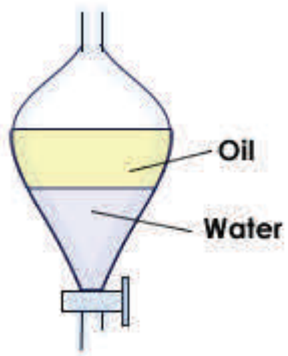
En partition- (P) eller fordelingskoefficient er (titals)-logaritmen til forholdet mellem koncentrationen af et (ikke-ioniseret) stof i to faser af en blanding af to ikke-blandbare opløsningsmidler ved ligevægt. Fordelingskoefficienten er et mål for differentieret opløselighed af stoffet mellem disse to opløsningsmidler. Normalt er et af de valgte opløsningsmidler vand mens den anden er hydrofobt såsom octanol.

$$\log_{10} P = \frac{C_{(vand)}}{C_{(oct.)}}$$

Derfor er fordelingskoefficienten et mål for, hvor hydrofil ("vandelskende") eller lipofil ("fedt elskende"), et kemisk stof er. Et stof med en logP værdi på 2, vil således være 100 gange mere opløselig i fedt (octanol) end i vand. Fordelingskoefficienter er nyttigt for eksempel i forbindelse med vurdering distribution af lægemidler i kroppen. Hydrofobe stoffer med høj fordelingskoefficient er fortrinsvis fordelt i fedtvæv, mens hydrofile stoffer (lav fordelingskoefficienter) fortrinsvis findes i hydrofile rum såsom blodet.

Lipofilicitet kan beregnes, for et eksempel se fx http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties





Figur 1 måling af lipofilicitet ved at male fordelingskoefficienten for et stofs fordeling mellem en vandfase og en fedtfase

LogD7,4: = lipofilicitet ved fysiologisk pH=7,4

Stoffer, som indeholder en funktionel gruppe med syre- eller base-egenskaber vil være ioniseret ved fysiologisk pH = 7,4 (afhængig af deres pKs-værdi).
Ionisering øger jo dramatisk opløseligheden i vand, så det er relevant at vurdere lipofilicitets-fordelingskoefficienten ved pH = 7,4. Dette kan man tage højde for ved at måle forholdet mellem summen af koncentrationerne (ioniseret plus ikke-ioniseret) i hver af de to faser. Det gøres i praksis ved at måle fordelingskoefficienten ved brug af en Buffer i den vandige fase med pH=7,4, (buffer bruges således at pH ikke signifikant forstyrres af indførelsen af stof). Logaritmen af forholdet mellem summen af koncentrationerne af opløst stof (ioniseret plus ikke-ioniseret) i vandig buffer med pH=7,4 i forhold til octanol kaldes Log D7,4

Lipofiliciteten bestemmer hvad kroppen gør ved lægemidlet

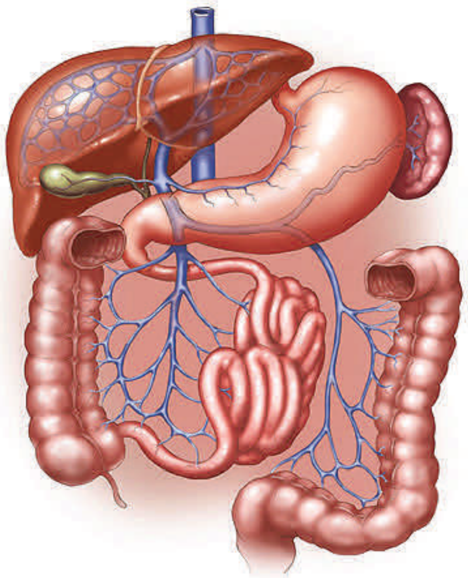
I forbindelse med **farmakokinetik** (hvad kroppen gør ved et lægemiddel), spiller et stofs lipofilicitet (dvs. fordelingskoefficienten) en stærk indflydelse på de såkaldte ADME-egenskaber (Absorption, Distribution, Metabolisme, og Excretion) af lægemidler.

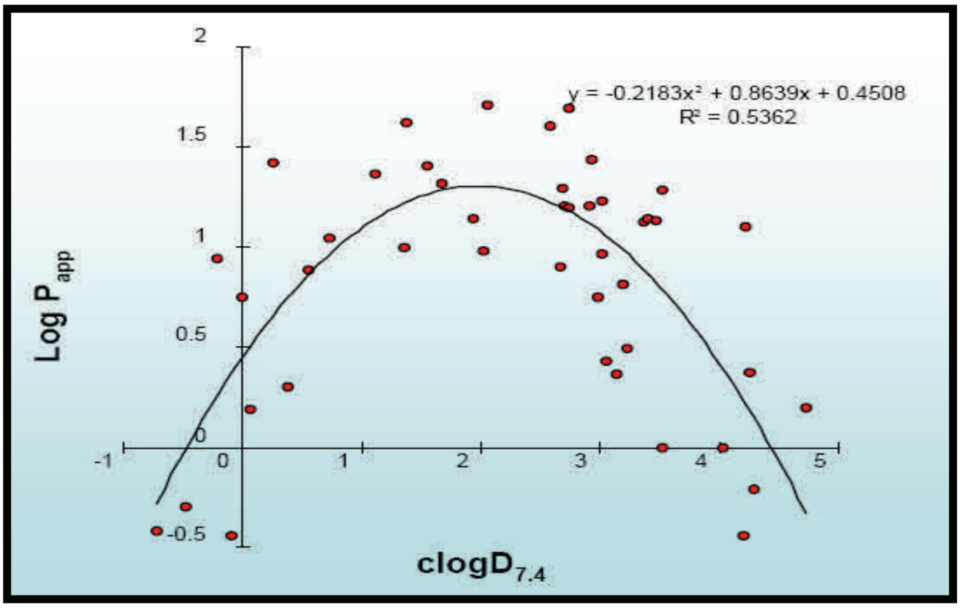
Den hydrofobe effekt er den vigtigste drivkraft for 4 forskellige processer:
1. et stofs evne til at gennemtrænge en bio-membran (fx slimhinde i mave/tarm)
2. et stofs evne til at binde uspecifikt til proteiner i blodplasma og i hjernevæv
3. et stofs evne til at blive genkendt af metaboliserende (nedbrydende) enzymer i leveren, tarm og blod-hjerne-barriere
4. et stofs giftighed

Lipofiliciteten bestemmer hvor godt et lægemiddel trænger over tarmen og I blodet

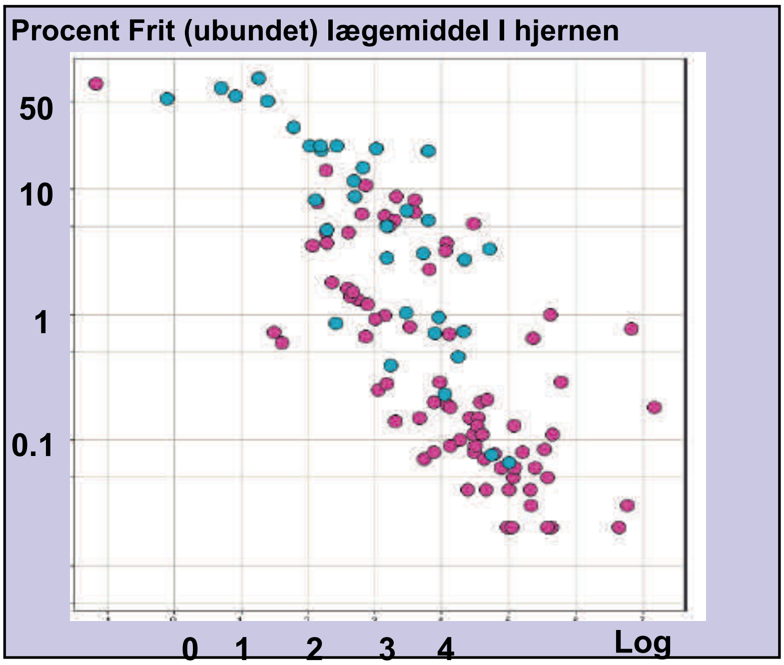
1. Permeabilitet over en bio-membran:
For at et lægemiddel kan absorberes oralt, skal det først igennem cellernes lipid dobbeltlag i tarmsystemets epitel (en proces kendt som transcellular transport). For effektiv transport (eller permeabilitet), skal lægemidler være hydrofobe nok til at trænge ind i cellernes lipid lag, men ikke så hydrofobe, at de ikke vil ud igen. Det fører til en parabel-formet sammenhæng imellem lipofiliciteten og permeabilitet (se figur 2).

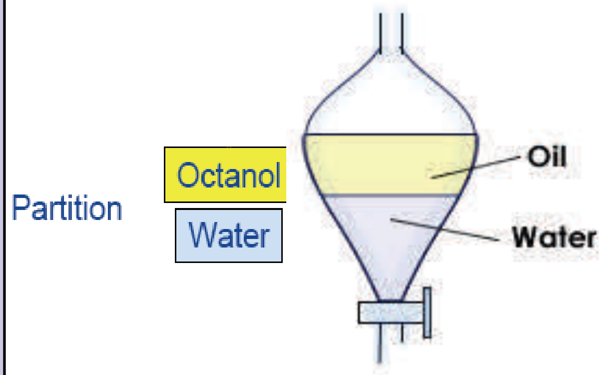
2. Koncentration af frit (ubundet) lægemiddel i hjernen
Alle lægemidler har en vis grad af uspecifik binding til proteiner og lipid-miceller i blod og væv. Det medfører at den mængde af lægemiddel som er frit (ubundet) og dermed tilgængelig for at kunne virke i kroppen er begrænset. Det afgøres også af stoffets lipofilicitet og der er en direkte lineær sammenhæng mellem logP og frit (ubundet) lægemiddel i fx hjernen (se figur 3).





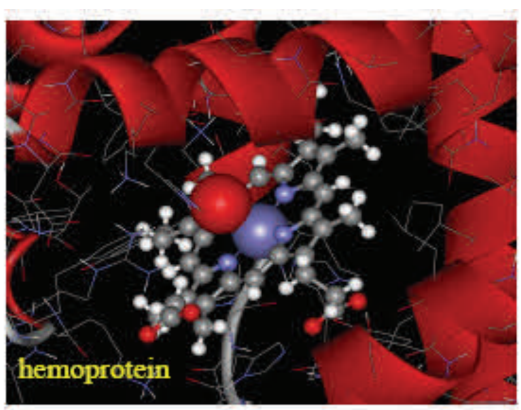
Figur 2. parabel –formet sammenhæng mellem permeabilitet (LogPapp) over tarmen og et stofs lipofilicitet ved fysiologisk pH (clogD7,4) .
Referencer: Riley et al., (2002) Current Drug Metabolism, 3, p527, Scott et al J. Pharmacol. Exp. Ther. 2007, 322, 205-213





Metabolisk stabilitet af lægemidler afhænger af lipofilicitet

En af Leverens meget vigtige opgaver er at rense blodet for fremmede kemiske stoffer. Denne opgave løser leveren ved at indeholde en række metaboliserende enzym systemer, de såkaldte cytochrom P450 enzymer, som er i stand til at oxidere og hydroxylere kemiske stoffer, heriblandt lægemidler. Det viser sig at ”det aktive site” som udfører denne kemiske omsætning af lægemidler udgør et meget lipofil bindingslomme og det har vist sig at være en lineær sammenhæng mellem lipofilicitet og hvor hurigt et stof nedbrydes metabolisk af leveren (se figur 4).



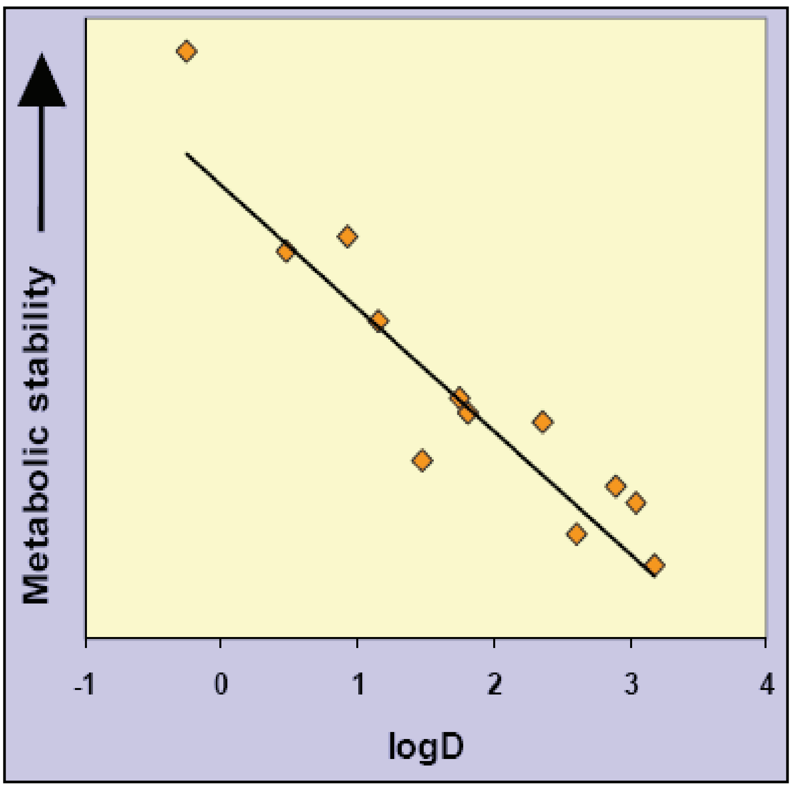


Figure 4: Lineær sammenhæng mellem stabiliteten af et lægemiddel og lægemidlets lipofilicitet. Jo mere lipofilt jo mere ustabilt. = des hurtigere metaboliseres (nedbrydes) det af leveren

Eksempler på metabolisk nedbrydning af lægemidler

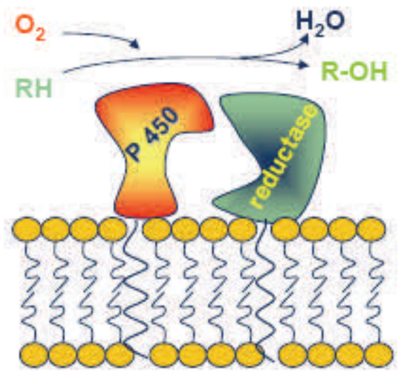
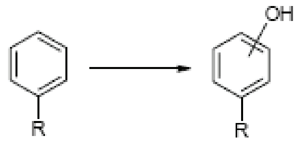


Figure 5: eksempler på typer af metaboliseerring af lægemidler I leveren

- Aromatic hydroxylation



e.g. phenytoin, propanolol, acetanilid

- O-demethylation

  R-OCH3 → R-OH + CH2O

  e.g. codeine

- N-demethylation

  RR1NCH3 → RR1NH + CH2O

  e.g. imipramine, amitriptiline

- S-demethylation

  $RSCH_3 \rightarrow RSH + CH_2O$

  e.g. 6-methylthiopurine

- S-oxidation

  R-S-R' → R-SO-R'

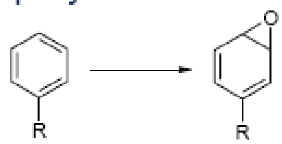
  eg. Chlorpromazine

- N-hydroxylation

  R-NH2 → R-NHOH

  eg. Amphetamines

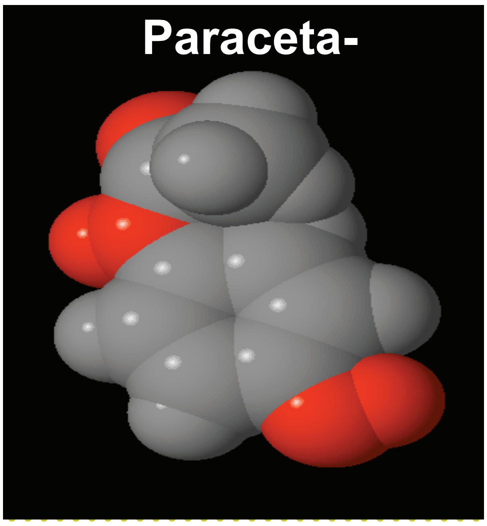
- epoxydation



PSA = polært overflade areal

Det polære overflade areal (PSA = polar surface area) er defineret som summen af overfladen af alle polære atomer (normalt oxygen og nitrogen), inkluderende også hydrogen som er bundet hertil. Det måles som regel i kvadrat-ångstrøm Å^2 (10^{-10} m^2).
Der er en lineær sammenhæng mellem PSA og antal N+O (se figur 6):

1 O/N ~ ca. 13 Å^2



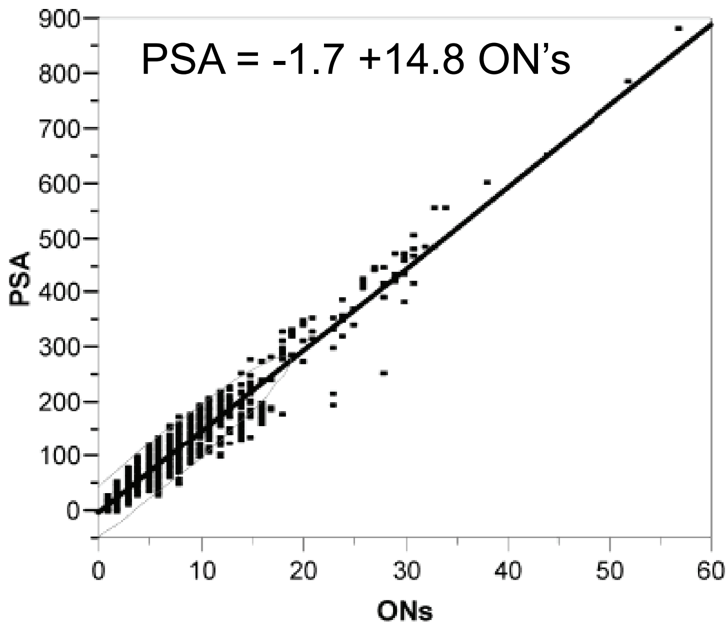


Figure 6: Lineær sammenhæng mellem polært overfladeareal (PSA) af et lægemiddel og antallet af nitrogen og oxygen I molekylet (ONs)
Refernce: *J. Med. Chem. 2004, 47, 224-232*

Til venstre: angivet med rødt er det polære overflade areal af paracetamol

Biotilgængelighed og penetrering af Blod-hjerne-Barriere

Der er en klar sammenhæng mellem et stofs evne til at blive absorberet fra mave-tarm kanalen og et stofs PSA (se figur 7).
Det illustreres ved en S-formet sammenhæng imellem biotilgængeligeden hos mennesker (F) og det polære overfladeareal, med følgende 3 nøgletal:
PSA < 60 Å^2, (~4 O+N's % med F >90 %)
PSA ≅ 100 Å^2, (~ 7 O+N's med % F = 50 %)
PSA > 140 Å^2, (~ 10 O+N's med %F <10 %)

For passage af et stof over de ca. 600 km blod-hjerne-barrie (figur 8) synes kravet at være endnu strengere, nemlig:
PSA < 70Å^2 ~ 6 O+N's.

Syre-basestyrken
stoffer som er ioniserede vil (I sagens natur) være meget polære og dermed have ringe opløselighed I lipider og dermed meget vanskeligt trænge ind over en biomembran. Ved fysiologoisk pH, vil en syre med pKs-værdi mindre end 6,4 derfor ikke have gode chancer som CNS-lægemiddel. Tilsvarende gælder for baser, hvis korresponderende syre har en pKs-værdi højere end 8.

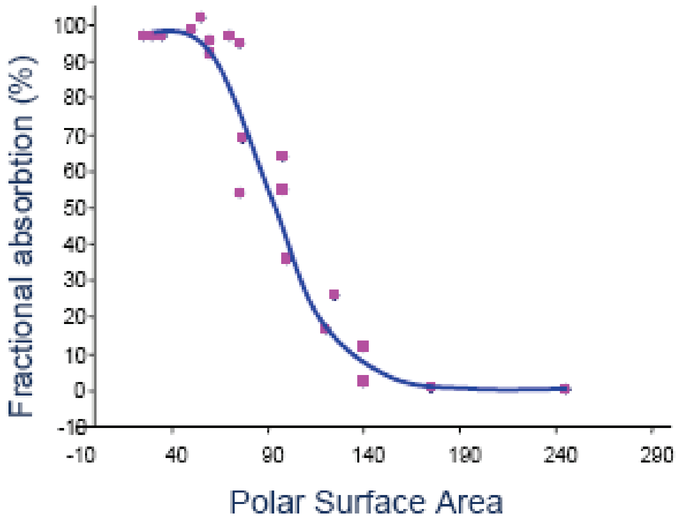


Figure 7: S-formet sammenhæng mellem polært overfladeareal (PSA) af et lægemiddel og hvor godt lægemidlet absorbers fra mave-tarm-kanalen
Refernce: *Clark: JPET 315:477–483, 2005*

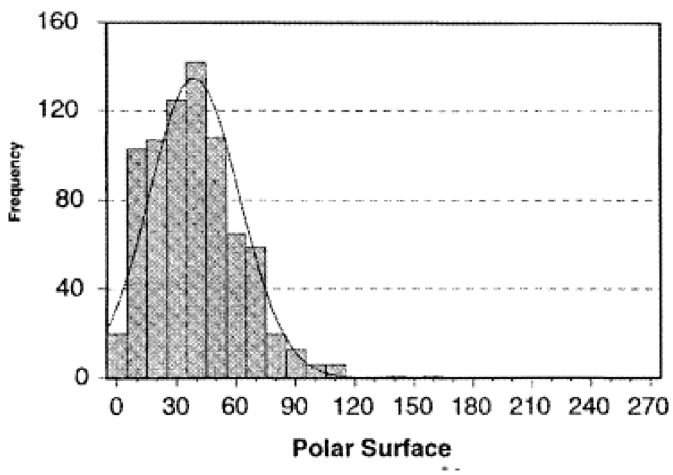
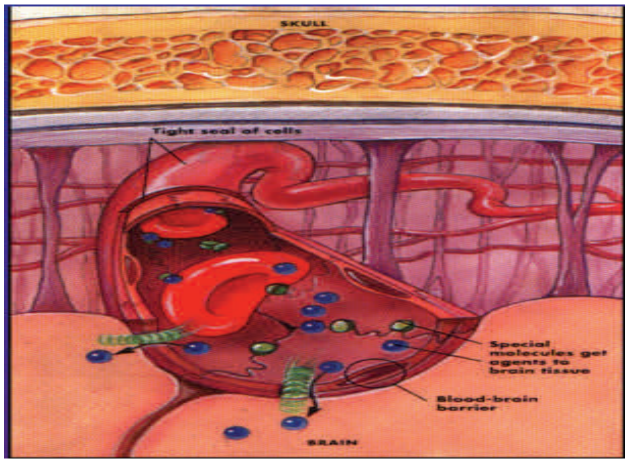


Figure 8: fordelingen af det polære overflade areal hos 776 CNS-lægemidler der har været testet I klinisk fase 2.
Refernce: *Jan Kelder; Pharm. Research,Vol. 16, No. 10, 1999*
Til højre: Blod-hjerne-Barrieren (BBB)





Molvægt af et stof bestemmer hvor godt det trænger over cellemembranen

Cellemembraner er opbygget af et dobbeltlipidlag, hvori ”svømmer” proteiner, ionkanaler, receptorer, vævstype o.m.a. (se figur). Lipidmolekylerne er typisk phospholipider og cholesterol, som typisk har en molvægt på mellem 500-750 g/mol. Det betyder at for molekyler som er større end dette vil der være en rent fysisk modstand, som gør at bevægelser og transport over membranen svækkes signifikant, hvilket har som konsekvens at medmindre der er en aktiv transport, så vil molekyler, som er større end ca. 500 g/mol ikke have nogen nævneværdig absorption.

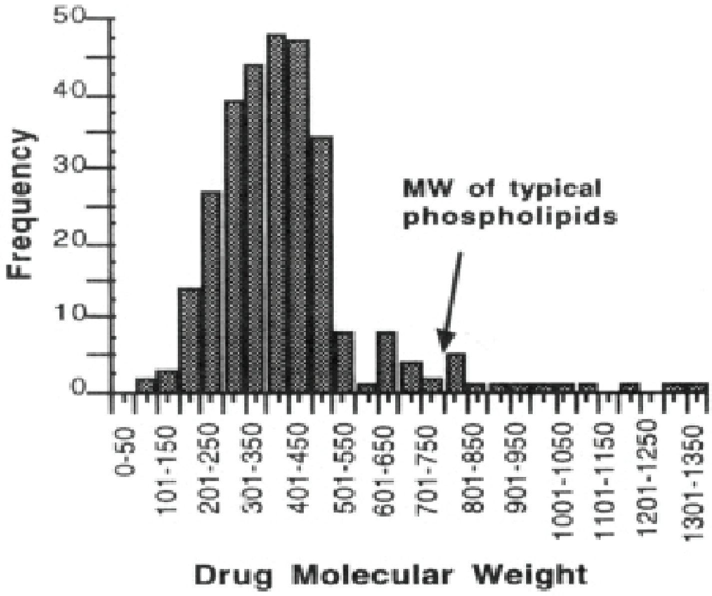
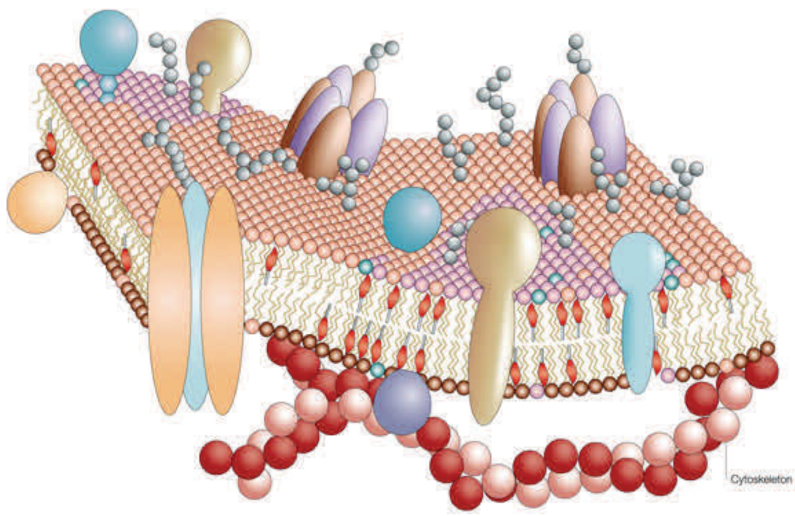
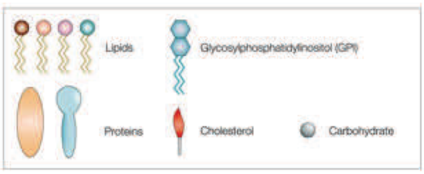


Figure 9: fordelingen af molekylvægten hos markedsførte -lægemidler

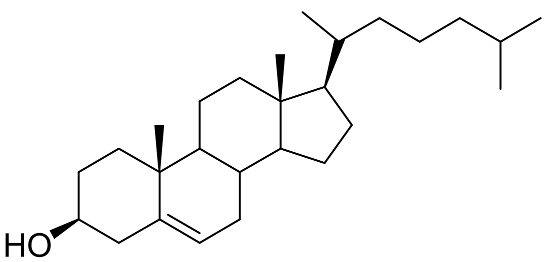
Refernce: *Pigeon et al. Eli Lilly J . Med. Chem.* 1996,38, 590-594



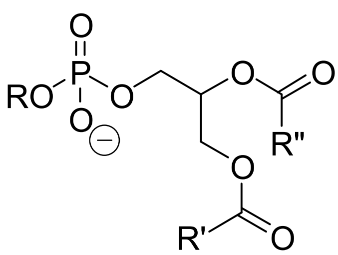


Til venstre:Model af cellemembranen

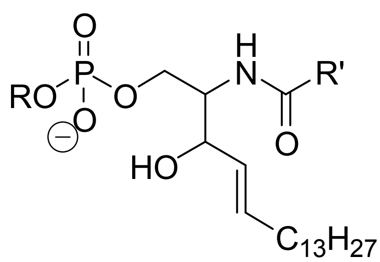
Forneden: eksempler på struktur af lipider I cellemembranen



cholesterol



phospholipids



sphingolipids

MPO = MultiParameter Optimering

Det fremgår tydeligt at der er en kompleks sammenhæng mellem mange fysisk-kemiske egenskaber og stofferenes egenskaber som lægemidler. Kemikeren har ansvaret for at kontrollere disse egenskaber og det er en væsentlig del af design og optimerings processen ved at opfinde nye lægemidler.
Et forsøg på at beskrive hvor godt et lægemiddels egenskaber er, set fra en fysisk kemisk synsvinkel, kræver derfor at man tager hensyn til multiple parametre. Dette forsøges gjort ved at beregne den såkaldte ”drugability” faktor kaldet ”MPO”-faktoren. MPO scoren beregnes ved at tage summen af den samlede score fra de seks forskellige beregnede fysisk-kemiske parametre:

MPO = ∑Score (clogP + clogD + TPSA + MW + HBD + pKa)

Det viser sig, at MPO > 4 for 75% af alle CNS lægemidler. Bemærk at maksimum scoren for MPO er 6, dvs. MPOmax = 6

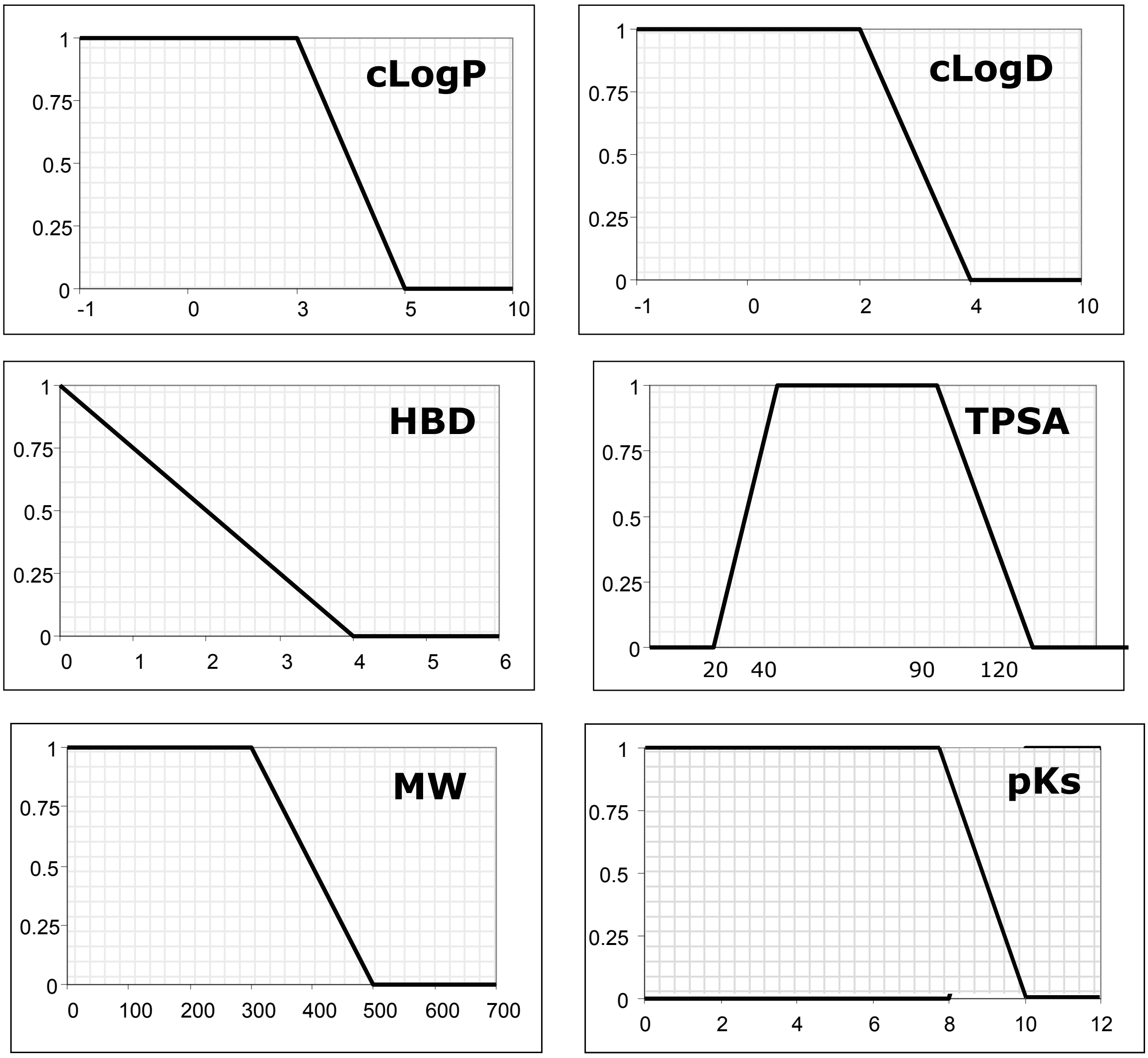


Figure 9: skemaer til at beregne score for hver enkelt af de seks fysisk kemiske parameter, som indgår I beregningen af MPO

Refernce: Document resource for QSAR community, Tony Wood: ” medicinal chemistry design challenges”, 2009 http://www.documentarea.com/qsar/Tony_Wood_design%20challenges_09.ppt

DRUGHUNTERS

Lundbeck







****
Jan Kehler
Principal Scientist
Department of Medicinal Chemistry (813)
H. Lundbeck A/S

Ottiliavej 9
2500 Valby, Denmark
Phone: +45 3643 3232 or mobile: 3083 3232
Fax: +45 3643 8237
Web: www.lundbeck.com

****